

**PENGARUH VOLUME AIR PADA PROSES REKRISTALISASI
TERHADAP RENDEMEN DAN KEMURNIAN ISOLAT
ALFA MANGOSTIN DARI KULIT BUAH MANGGIS
(*Garcinia mangostana* Linn.)**

SKRIPSI



Oleh :

**ENDANG PRASETYOWATI
K 100 060 039**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2010**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Garcinia mangostana Linn. atau manggis merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan. Hal ini berkaitan dengan kandungan berbagai macam ksanton dalam tanaman manggis terutama alfa mangostin. Konsentrasi alfa mangostin paling banyak terdapat pada kulit buah manggis yang dikeringkan (Walker, 2007).

Senyawa alfa mangostin mempunyai beberapa kegunaan, yaitu efek kemopreventif pada kanker kolon (Nabandith *et al.*, 2004) dan dapat menghambat pertumbuhan sel leukemia HL60 (Matsumoto *et al.*, 2003). Alfa mangostin memiliki efek anti inflamasi (Chen *et al.*, 2008). Selain itu, alfa mangostin mempunyai efek penghambatan yang kuat terhadap *Mycobacterium tuberculosis* (Suksamrarn *et al.*, 2003).

Alfa mangostin dapat diperoleh dengan cara isolasi dari ekstrak heksana kulit buah manggis (Walker, 2007). Alfa mangostin diperoleh dari hasil evaporasi ekstrak heksana dan direkristalisasi dengan menambahkan sedikit air dengan perbandingan 1:20 dari metanol hangat yang ditambahkan kemudian didinginkan (Walker, 2007). Alfa mangostin mempunyai struktur yang mirip dengan gartanin dan waktu retensi yang dekat. Kemurnian alfa mangostin dan ksanton yang lain biasanya diuji menggunakan HPLC dengan detektor UV (Walker, 2007). Isolasi dalam penelitian ini didasarkan pada pendesakkan kristal

alfa mangostin oleh air dengan melihat pengaruh penambahan air pada rekristalisasi terhadap rendemen dan kemurnian alfa mangostin. Uji kualitatif dilakukan dengan KLT dan untuk menentukan kadar dan kemurnian alfa mangostin digunakan HPLC. Volume air yang ditambahkan bervariasi diharapkan akan mendapatkan volume air yang optimum pada proses isolasi alfa mangostin, sehingga diperoleh rendemen kristal alfa mangostin yang banyak dan kemurnian yang tinggi.

B. Perumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh penambahan volume air terhadap rendemen alfa mangostin dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)?
2. Bagaimana pengaruh penambahan volume air terhadap kemurnian alfa mangostin dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)?

C. Tujuan Penelitian

1. Menentukan volume air yang menghasilkan rendemen alfa mangostin yang optimal dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)
2. Menentukan volume air yang menghasilkan kemurnian alfa mangostin paling murni dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.)

a. Sistematika Tanaman

Sistematika dari tanaman manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) dapat dikelompokkan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Ordo	: Guttiferanales
Familia	: Guttiferae
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>Garcinia mangostana</i> Linn.

(Rukmana, 1995)

b. Kandungan Kimia

Tanaman manggis mempunyai beberapa kandungan kimia, kulit kayu manggis mengandung tanin (Dweck, 2003) dan sejumlah zat warna kuning yang berasal dari dua metabolit yaitu mangostin dan -mangostin (Jafferson *et al.*, 1970 cit Sudarsono dkk, 2007). Aril dari manggis mengandung 10,8% sakarose, 1% dekstrosa, dan 1,2% kerelose. Ekstrak metanol dari daun manggis mengandung 2-etil-3-metilmaleimid N-beta-D-glukopiranosit (Dweck, 2003).

Kulit buah manggis mengandung 5.5% tanin, resin, mangostin ($C_{20}H_{22}O_5$) atau mangosin (Dweck, 2003). Mangostin merupakan komponen

utama sedangkan -mangostin merupakan konstituen minor. Metabolit baru yang ditemukan yaitu 1,3,6,7-tetrahidroksi-2,8-di(3-metil-2-butenil) ksanton yang diberi nama -mangostanin dari kulit buah *Garcinia mangostana* Linn. (Jafferson *et al.*, 1970 *cit* Sudarsono dkk, 2007).

c. Kegunaan Tanaman

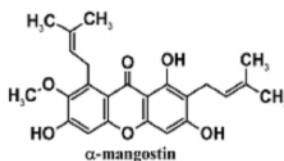
Tanaman manggis mempunyai banyak sekali kegunaan, dari semua bagian tanaman dapat digunakan untuk pengobatan. Selain buahnya dapat dimakan dan mempunyai rasa yang enak, buah manggis dapat digunakan untuk mengobati diare, radang, amandel, keputihan, disentri, wasir, borok; disamping itu dapat juga digunakan sebagai peluruh dahak, dan juga digunakan untuk sakit gigi. Kulit batangnya dapat digunakan untuk mengatasi nyeri perut (Sudarsono dkk, 2007). Akar dari buah manggis dapat juga digunakan untuk mengatasi haid yang tidak teratur (Anonim, 1985 *cit* Sudarsono dkk, 2007). Kulit buah manggis dapat digunakan sebagai anti jamur, anti inflamasi, dan ekstrak metanol kulit buah manggis dapat digunakan sebagai antioksidan (Dweck, 2003).

2. Alfa mangostin

Alfa mangostin merupakan jenis ksanton yang dapat ditemukan pada tanaman manggis, terutama di kulit buahnya. Ksanton ialah pigmen fenol kuning yang reaksi warnanya dan gerakan distribusinya serupa dengan flavanoid, akan tetapi secara kimia ksanton berbeda dengan flavanoid dan mudah dibedakan dari flavanoid berdasar sifat spektrumnya yang khas (Harborne, 1987). Ksanton mempunyai struktur kimia yang khusus, yang dinamakan sistem cincin aromatic trisiklik yang biasanya disubstitusi dengan isoprene, fenol, dan metoksi sehingga

memberikan banyak kemungkinan struktur (Walker, 2007). Senyawa ksanton tidak dapat larut dalam air, tapi dapat larut pada beberapa pelarut yang lain yang jarak kepolarannya dari metanol sampai heksana (Walker, 2007).

Alfa mangostin merupakan serbuk amorfus berwarna kuning yang mempunyai titik leleh 180-182°C dan dapat dilihat pada spektrofotometer UV dengan panjang gelombang maksimum 215, 243, 317 (Ee *et al*, 2005). Mangostin dapat diperoleh dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) yang direbus, tannin dipisahkan dengan alkohol dan kemudian dievaporasi, sehingga akan menghasilkan produk berupa mangostin dan resin (Nadkarni & Nadkarni, 1999). Teknik isolasi alfa mangostin yang dilakukan oleh Walker (2007) yaitu dengan merendam kulit buah manggis dengan pelarut heksana, kemudian dievaporasi dengan *rotatory evaporator*. Ekstrak dilarutkan dalam metanol hangat dan direkristalisasi dengan menambahkan aquades dengan perbandingan 20:1 dari metanol dan dilanjutkan dengan pendinginan. Struktur dari alfa mangostin dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur Alfa Mangostin (Walker, 2007)

3. Metode Penyarian

Penyarian merupakan peristiwa perpindahan masa zat aktif yang semula berada dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan

penyari. Pada umumnya, penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisianya yang bersentuhan dengan penyari semakin luas (Depkes RI, 1986).

Ekstrak adalah sediaan kering, kental dan cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh matahari langsung (Depkes RI, 1979). Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk. Metode penyarian merupakan salah satu bagian dari isolasi bahan alam. Metode dasar penyarian adalah maserasi, perkolasi dan ekstraksi dengan alat soxhlet.

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi adalah suatu proses dimana serbuk tanaman direndam dalam cairan penyari sampai struktur seluler melunak, terpenetrasi oleh cairan penyari dan senyawa-senyawa menjadi terlarut dalam cairan penyari (Ansel, 1981). Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak menggunakan benzoin, stirak, dan lain-lain. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan sederhana dan mudah diusahakan, sedangkan kerugian maserasi adalah pengerjaan lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes RI, 1986).

4. Kromatografi Lapis Tipis

a. Pengertian

Metode kromatografi merupakan cara pemisahan senyawa-senyawa yang berada dalam sediaan dengan jalan penyarian, penyerapan, atau pertukaran ion pada zat berpori dengan menggunakan cairan atau gas mengalir. Zat yang diperoleh digunakan untuk identifikasi dan penetapan kadar (Depkes RI, 1979).

Kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, plat aluminium, atau plat plastik. Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*), atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) (Gandjar dkk, 2007). Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah plat atau lapisan ditaruh dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler. Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985).

b. Fase Diam

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penyerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensinya dan resolusinya. Penyerap yang biasa digunakan adalah silica dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi yang utama pada KLT adalah partisi dan absorpsi (Gandjar dkk, 2007).

c. Fase Gerak

Sistem yang paling sederhana adalah campuran dua pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi berikut secara optimal. Beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak antara lain: fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi, daya elusi fase gerak harus diatur

sehingga harga R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan, pemisahan menggunakan fase diam polar polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut, solut-solut ionik dan polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya (Ganjar dkk, 2007).

Noda-noda dalam kromatogram ditunjukkan dengan harga R_f (*Retardation factor*) (Sastrohamidjojo, 1991). Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan harga R_f atau hR_f .

$$R_f = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal penotolan}}{\text{jarak garis depan pengembang dari titik awal penotolan}}$$

5. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

a. Pengertian

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC, *High Performance Liquid Chromatography*) merupakan suatu teknis analisis obat yang paling cepat berkembang. Cara ini ideal untuk analisis beragam obat dalam sediaan dan cairan biologi, karena sederhana, kemenjenisan dan kepekaan tinggi (Munson, 1991). Kegunaan umum KCKT adalah untuk pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis; analisis ketidakmurnian (*impurities*); analisis senyawa-senyawa tidak mudah menguap (*non-volatile*); penentuan molekul-molekul netral, ionik, maupun *zwitter ion*; isolasi dan pemurnian senyawa-senyawa dalam jumlah sekelumit (*trace element*) dalam jumlah banyak, dan dalam skala proses industri. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif. Keterbatasan metode KCKT adalah untuk identifikasi senyawa, kecuali jika KCKT dihubungkan dengan spektrofotometri massa (MS). Keterbatasan lainnya

adalah jika sampelnya sangat kompleks, maka resolusi yang baik sulit diperoleh (Gandjar dkk., 2007)

Kromatografi merupakan teknik yang mana solut atau zat-zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solut-solut ini melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solut-solut ini diatur oleh distribusi solut dalam fase gerak dan fase diam. Penggunaan kromatografi cair secara sukses terhadap suatu masalah yang dihadapi membutuhkan penggabungan secara tepat dari berbagai macam kondisi operasional seperti jenis kolom, fase gerak, panjang dan diameter kolom, kecepatan alir fase gerak, suhu kolom, dan ukuran sampel (Gandjar dkk., 2007).

b. Peralatan

Alat utama HPLC adalah tandon pelarut, pipa, pompa, penyuntik, kolom, detektor, dan perekam (Manson, 1991)

1) Tandon pelarut (wadah fase gerak)

Tandon pelarut atau fase gerak harus mempunyai beberapa ciri. Bahan tandon harus lembam terhadap berbagai fase gerak berair dan tidak berair. Sehingga baja nir (anti) karat dan gelas menjadi bahan terpilih. Tetapi baja nirkarat juga jangan dipakai pada pelarut yang mengandung ion halida dan jika tandon harus bertekanan, hindari penggunaan gelas (Manson, 1991). Adanya pengotor dalam reagen dapat menyebabkan gangguan pada sistem kromatografi. Adanya partikel yang kecil dapat terkumpul dalam kolom atau dalam tabung yang sempit, sehingga dapat mengakibatkan sesuatu kekosongan pada kolom atau

tabung tersebut. Fase gerak sebelum digunakan harus disaring terlebih dahulu untuk menghindari partikel-partikel kecil ini (Gandjar dkk., 2007).

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Untuk fase normal (fase diam lebih polar dari fase gerak), kemampuan elusi meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut. Sementara untuk fase terbalik (fase diam kurang polar daripada fase gerak), kemampuan elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut. Elusi dapat dilakukan dengan cara isokratik (komposisi fase gerak tetap selama elusi) atau dengan cara bergradien (komposisi fase gerak berubah-ubah selama elusi). Elusi bergradien digunakan untuk meningkatkan resolusi campuran yang kompleks terutama jika sampel mempunyai kisaran polaritas yang luas (Gandjar dkk., 2007).

2) Pompa

Pompa yang cocok untuk KCKT yaitu pompa yang harus memenuhi syarat wadah pelarut yakni pompa harus *inert* terhadap fase gerak. Bahan yang umum digunakan untuk pompa adalah gelas, baja tahan karat, Teflon dan batu nilam. Pompa yang cocok digunakan sebaiknya mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan alir 3 ml/menit. Tujuan penggunaan pompa yaitu untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduksibel, konstan, dan bebas dari gangguan. Ada dua jenis pompa dalam KCKT yaitu pompa dengan tekanan konstan, dan pompa dengan aliran fase gerak yang konstan (Gandjar dkk., 2007).

3) Penyuntik

Sampel-sampel cair dan larutan disuntikkan secara langsung ke dalam fase gerak yang mengalir di bawah tekanan menuju kolom menggunakan alat penyuntik yang terbuat dari tembaga tahan karat dan katup teflon yang dilengkapi dengan keluk sampel internal atau eksternal (Gandjar, dkk., 2007).

4) Kolom

Ada dua jenis kolom pada KCKT yaitu kolom konvensional dan kolom mikrobor, kolom mikrobor tidak setahan kolom konvensional dan kurang bermanfaat untuk analisis rutin (Gandjar, dkk., 2007). Penyaring dipasang 2 μm di jalur antara penyuntik dan kolom, untuk menahan partikel yang dibawa fase gerak atau terokan. Hal ini dapat memperpanjang umur kolom (Manson, 1991).

5) Detektor

Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu: detektor universal (yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik, dan tidak bersifat selektif) seperti detektor indeks bias dan detektor spektrometri massa; dan golongan detektor yang spesifik yang hanya akan mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, seperti detektor UV-Vis, detektor fluoresensi, dan elektrokimia (Gandjar, dkk., 2007). Detektor HPLC yang ideal hendaknya mempunyai beberapa sifat, dapat memberi tanggapan kepada terokan, kepekaan tinggi, hasilnya terulang dan tanggapannya dapat diramalkan (Manson, 1990).

6) Perekam

Perekam saat ini jarang digunakan karena perekam tidak dapat mengintegrasikan data, sementara itu baik integrator maupun komputer mampu mengintegrasikan puncak-puncak dalam kromatogram. Komputer mempunyai keuntungan lebih karena komputer secara elektronik mampu menyimpan kromatogram untuk evaluasi di kemudian hari (Gandjar, dkk., 2007).

E. Landasan Teori

Alfa mangostin merupakan senyawa ksanton. Ksanton mempunyai struktur kimia yang khusus, yang dinamakan sistem cincin aromatik trisiklik yang biasanya disubstitusi dengan isoprene, fenol, dan metoksi sehingga memberikan banyak kemungkinan struktur (Walker, 2007). Senyawa ksanton tidak dapat larut dalam air, tapi dapat larut pada beberapa pelarut yang lain yang jarak kepolarannya dari metanol sampai heksana (Walker, 2007). Alfa mangostin mempunyai struktur yang sama dengan gartanin, dengan waktu retensi yang dekat pada analisis menggunakan HPLC dengan fase gerak 65-90% metanol dalam asam formiat 0,1% secara gradien (Walker, 2007).

Isolasi merupakan salah satu cara untuk mendapatkan suatu senyawa. Senyawa yang diperoleh dapat dimurnikan dengan proses rekristalisasi. Salah satu cara untuk mendapatkan senyawa murni yaitu dengan metode rekristalisasi. Rekristalisasi merupakan proses yang utama dalam pemurnian zat padat. Proses ini dipengaruhi oleh perbedaan kelarutan suatu zat pada pelarut panas dan dingin (Anonim, 2006). Zat padat dilarutkan pada sejumlah pelarut yang telah

dididihkan, selama proses pendinginan kristal akan keluar dikarenakan kelarutan yang rendah pada suhu yang rendah (Anonim, 2006).

Alfa mangostin dapat diisolasi dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) dan dilakukan rekristalisasi untuk mendapatkan kistal alfa mangostin yang murni. Ekstrak heksana dari kulit buah manggis dilarutkan dengan sejumlah metanol hangat dan air dengan perbandingan 20:1 (Walker, 2007). Isolasi tersebut menghasilkan beberapa kandungan ksanton dengan konsentrasi terbesar alfa mangostin (Walker, 2007). Proses rekristalisasi ini menggunakan dua pelarut. Pemilihan pelarut berdasarkan pada perbedaan kelarutan senyawa dalam kedua pelarut. Pelarut yang satu harus dapat melarutkan senyawa yang diinginkan, dan pelarut yang lain tidak dapat melarutkan senyawa tersebut (Vogel, 1978). Alfa mangostin tidak dapat larut dalam air akan tetapi dapat larut dalam metanol, sehingga dipilih metanol-air sebagai pelarut dalam proses rekristalisasi alfa mangostin.

Isolasi alfa mangostin dengan penambahan volume air yang bervariasi akan berpengaruh terhadap rendemen dan kemurnian alfa mangostin dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang diperoleh.

F. Hipotesis

1. Penambahan air sampai volume tertentu pada ekstrak heksana akan menghasilkan rendemen alfa mangostin yang terbanyak dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.).

2. Penambahan air sampai volume tertentu pada ekstrak heksana akan menghasilkan alfa mangostin yang paling murni dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.).